

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 08165237
PUBLICATION DATE : 25-06-96

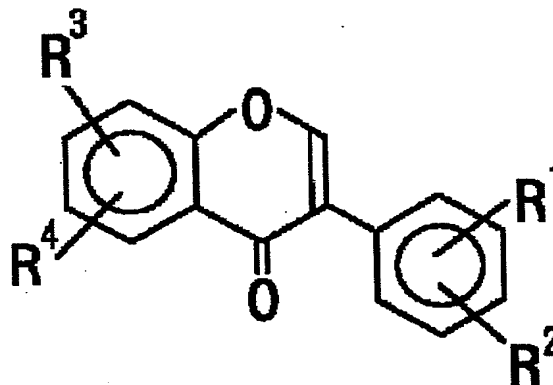
APPLICATION DATE : 12-12-94
APPLICATION NUMBER : 06307232

APPLICANT : BIO KOSUMOSU:KK;

INVENTOR : YAHAGI HARUHISA;

INT.CL. : A61K 31/35 C07D311/36

TITLE : AGENT FOR IMPROVING BLOOD
FLOWABILITY



ABSTRACT : PURPOSE: To provide an agent for improving blood flowability useful for preventing and/or curing diseases with pathologically reduced blood flowability, having an activity for improving deformation performance of red cells and capable of improving blood flowability in the microcirculatory region.

CONSTITUTION: This blood flowability-improving agent contains an isoflavon, preferably daidzein or orobol of the formula (R¹ is OH; R² is H or OH; R³ is OH or a protected OH; R⁴ is H or OH) as an effective ingredient and is a curative agent for preventing and/or curing diseases accompanied with a reduction of blood flowability. The effective ingredient compound is a usual compound known as isoflavon or easily available from known raw material compounds or plant raw materials by usual methods. E.g. daidzein is in wide varieties of plants, included in soy beans, Puerariae Radix, etc., as a glycoside (daidzin) in a large amount and easily available. A dose per oral of the agent is 0.02-10mg/kg per adult per day, preferably 0.02-10mg/kg per adult per day as an effective amount.

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-165237

(43)公開日 平成8年(1996)6月25日

(51)Int.Cl.⁶

A 6 1 K 31/35

C 0 7 D 311/36

識別記号

A B Y

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数5 OL (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平6-307232

(22)出願日 平成6年(1994)12月12日

(71)出願人 593226869

有限会社バイオコスモス

東京都世田谷区松原 3-23-27-203

(72)発明者 遠藤 章

東京都杉並区宮前 3-2-19

(72)発明者 蓮見 恵司

東京都稲城市向陽台 5-9-2-301

(72)発明者 矢萩 晴久

東京都中野区鷺宮 3-3-25 第2末広
マンション2-102

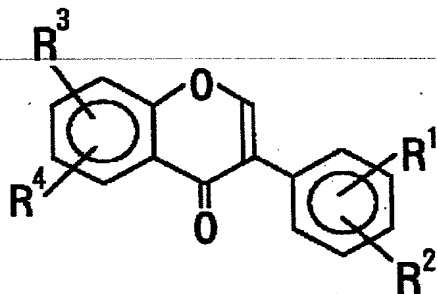
(74)代理人 弁理士 塩澤 寿夫 (外1名)

(54)【発明の名称】 血液流動性改善剤

(57)【要約】

【構成】 下記の式：

【化1】



(式中、R¹は水酸基を示し、R²は水素原子又は水酸基を示し、R³は水酸基又は保護された水酸基を示し、R⁴は水素原子又は水酸基を示す)で示される化合物を有効成分として含む、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又は治療剤。

【効果】 赤血球の変形能を改善する作用を有しており、微小循環領域における血液の流動性を改善することができるので、病態として血液流動性の低下する疾患の

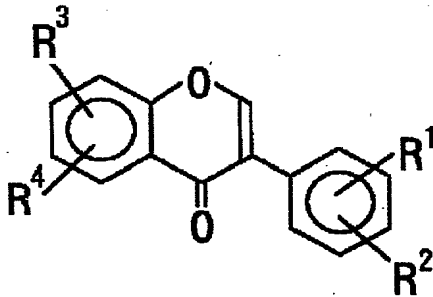
予防及び／又は治療に有用である。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の式：

【化1】



(式中、R¹ は水酸基を示し、R² は水素原子又は水酸基を示し、R³ は水酸基又は保護された水酸基を示し、R⁴ は水素原子又は水酸基を示す) で示される化合物を有効成分として含む、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又は治療剤。

【請求項2】 R¹ が水酸基であり、R² が水素原子であり、R³ が水酸基であり、R⁴ が水素原子である化合物を有効成分として含む請求項1に記載の予防及び／又は治療剤。

【請求項3】 ダイゼイン又はオロボールを有効成分として含む請求項2に記載の予防及び／又は治療剤。

【請求項4】 赤血球変形能を改善する請求項1ないし3のいずれか1項に記載の予防及び／又は治療剤。

【請求項5】 血液流動性の低下する疾患が脳血栓後遺症である請求項1ないし4のいずれか1項に記載の予防及び／又は治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬の発明に関するものである。さらに詳しくは、本発明は、赤血球の変形能を改善することにより、微小循環領域における血液の流動性を改善する作用を有し、病態として血液流動性の低下が認められる疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬の発明に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、動脈硬化の初期病変が血管系の特定の部位に好発することから、その発生に血行力学因子の関与が指摘されている。血管内皮細胞は血管内腔に一層で存在しており、血流のもたらす血行力学的な作用に常時さらされている。その一方で、血管内皮細胞は種々の生理活性物質の産生を介して血管の成長やトーンスの調節に深く関わっている。

【0003】 内皮下への脂質の沈着と平滑筋細胞の増殖を特徴とする粥腫は、分岐部や湾曲部など血管の幾何学的形態が急激に変化する部分に発生し易いことが知られている。このような部分では血流が変化しており、血流の停滞や乱流が生じ、血管壁に作用する壁ずり応力 (wa

2

ll shear stress)の強さや方向性が時間的に変化している。

【0004】 この壁ずり応力は、血管の中心を最大とする血流の速度勾配と血液粘度の積により規定される。血液の粘度は種々の要因に支配されているが、その主なものとして、ヘマトクリット、血しょうの組成と粘度、赤血球の変形能、赤血球の集合形成、血液凝固、赤血球や血小板の凝集などを挙げることができる。これらの要因を変化させることにより、血管分岐部などでの血流の改善、血管内の狭窄部位での圧力の軽減、脳血管など末梢循環部位での血液の流動性の改善を達成できる可能性がある。

【0005】 従来、赤血球の変形能を改善する作用を有する薬剤として、ペントキシフィリン (3,7-dihydro-3,7-dimethyl-1-(4-acetylbutyl)-1H-purine-2,6-dione:

「トレンタール」としてヘキスト・ジャパン株式会社から販売されている) 及びサルボグレラート((±)-1-[o-[2-(m-methoxyphenyl)ethyl]phenoxy]-3-(dimethylamino)-2-propyl hydrogen succinate hydrochloride: 「アンプラッグ」として東京田辺製薬株式会社から販売されている) が臨床的に用いられている。また、ビンボセチン、ニセルゴリン、マレイン酸シネバジド、トラピジル、塩酸ジラゼブ、塩酸フルナリジン、シンナリジンなども、赤血球変形能を有することが報告されている。

【0006】 これらのうち、ペントキシフィリンは、赤血球の変形能を改善することにより微小循環領域での赤血球通過性を高めて血液の流動性を改善する薬剤であり、サルボグレラートはセロトニンの5HT₂レセプターに対する拮抗剤として知られており、ペントキシフィリンの数十倍以上強力な赤血球変形能改善作用を有するとされている。ペントキシフィリンは、脳血栓に基づく後遺症の改善に用いられており、サルボグレラートは虚血性諸症状に用いられている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬を提供することにある。別な観点からは、本発明は、赤血球の変形能を改善する作用を有する医薬を提供することを目的としている。さらに具体的にいえば、本発明の目的は、赤血球の変形能を改善する作用を有し、微小循環領域における血液の流動性を改善することにより、病態として血液流動性の低下が認められる疾患の予防及び／又は治療を可能にする医薬を提供することにある。

【0008】

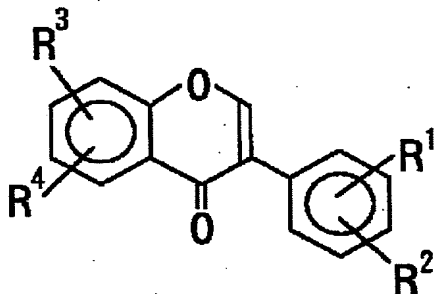
【課題を解決するための手段】 本発明者は、上記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、ダイゼイン (daidzein) に代表されるイソフラボン類が、赤血球の変形能を著しく改善することを見出した。また、これらの化合物が血液流動性、特に微小循環部位での血液流動性を改善するので、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又

3

は治療に有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】すなわち本発明は、下記の式：

【化2】



(式中、R¹は水酸基を示し、R²は水素原子又は水酸基を示し、R³は水酸基又は保護された水酸基を示し、R⁴は水素原子又は水酸基を示す)で示される化合物を有効成分として含む、血液流動性が低下する疾患の予防及び／又は治療剤を提供するものである。

【0010】本発明の好ましい態様によれば、R¹が水酸基であり、R²が水素原子であり、R³が水酸基であり、R⁴が水素原子である化合物を有効成分として含む上記予防及び／又は治療剤；ダイゼイン又はオロボールを有効成分として含む上記予防及び／又は治療剤；赤血球変形能を改善する上記予防及び／又は治療剤；及び、血液流動性が低下する疾患が脳血栓後遺症である上記予防及び／又は治療剤が提供される。

【0011】上記の一般式中、R¹は水酸基を示し、R²は水素原子又は水酸基を示す。R²が水素原子を示す場合、R¹の水酸基は4H-1-ベンゾピラン-4-オンの3-位に置換するフェニル環上の2'-位、3'-位、又は4'-位のいずれの位置に置換していてもよい。R²が水酸基を示す場合には、2つの水酸基は、2'-位と3'-位、2'-位と4'-位、2'-位と5'-位、2'-位と6'-位、3'-位と4'-位、又は、3'-位と5'-位のいずれの位置に置換していてもよい。これらのうち、R¹が水酸基でありR²が水素原子であることが好ましく、R¹が4'-位の水酸基を示し、R²が水素原子であることが特に好ましい。

【0012】上記の一般式中、R³は水酸基又は保護された水酸基を示し、R⁴は水素原子又は水酸基を示す。R⁴が水素原子を示す場合、R³は4H-1-ベンゾピラン-4-オンの5-位、6-位、7-位、又は8-位のいずれの位置に置換していてもよい。R³が保護された水酸基を示しR⁴が水酸基を示す場合、R³とR⁴の置換位置は、それぞれ5-位と6-位、5-位と7-位、5-位と8-位、6-位と5-位、6-位と7-位、6-位と8-位、7-位と5-位、7-位と6-位、7-位と8-位、8-位と5-位、8-位と6-位、又は8-位と7-位のいずれでもよい。また、R³とR⁴がともに水酸基を示す場合、5-位と6-位、5-位と7-位、5-位と8-位、6-位と7-位、6-位と8-位、又は7-位と8-位のいずれでもよい。これらのうち、R³が水酸基でありR⁴が水素原子であることが好まし

4

く、R³が7-位水酸基でありR⁴が水素原子であることが特に好ましい。

【0013】R³が保護された水酸基を示す場合、水酸基の保護基としては、例えば、メチル基などのアルキル基、アセチル基などのアシル基、t-ブトキシカルボニル基などのカルボニルオキシ基、トリメチルシリル基などのアルキルシリル基などを挙げることができる。もっとも、水酸基の保護基はこれらに限定されることはなく、当業者に利用可能なものならばいかなるものを用いてもよい。また、このような保護基としては、投与後に生体内で速やかに加水分解されてR³が水酸基の化合物を与えるものが好ましい。保護された水酸基を有する化合物は、それ自体が本発明の医薬の有効成分として有用である場合もあるが、いわゆるプロドラッグとしても有用である。

【0014】例えば、保護基としてグルコースなどの糖を利用することもできる。例えば、7-位又は5-位の水酸基に糖が付加したグルコシド、ガラクトシド又はラムノシドなどの化合物を本発明の医薬の有効成分として用いてもよい。このような化合物は、イソフラボン化合物の配糖体として当業者に周知の化合物である。このような化合物は、極めて高い水溶性を示すので容易に注射薬などを製造することができるうえ、生体内に投与された後に速やかに加水分解されてR³が水酸基の化合物を与えるので、本発明の医薬の有効成分として好ましい化合物である。

【0015】本発明の医薬の有効成分として特に好ましい化合物としては、ダイゼイン (daidzein: 7-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one; R¹: 4'-OH; R²: H; R³: 7-OH; R⁴: H)、ダイゼインの7-グルコシドであるダイジン (daidzin)、オロボール (orobol: 5,7-dihydroxy-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one; R¹: 4'-OH; R²: 3'-OH; R³: 7-OH; R⁴: 5-OH)などを挙げることができる。

【0016】もっとも、本発明の医薬の有効成分は上記の好ましい化合物に限定されることはなく、例えば、下記の実施例に記載された試験方法によって、上記の一般式に包含される化合物から目的に応じた有効成分を適宜選択することが可能である。本発明の有効成分の化合物は、それ自体がイソフラボンとして公知の化合物であるか、あるいは公知の原料化合物ないしは植物原料から当業者に周知の方法により容易に入手可能である。例えば、ダイゼインは植物などに広く存在しており、大豆や葛根等に配糖体(ダイジン)として多量に含有されているので容易に入手可能である。

【0017】本発明の医薬としては、有効成分である上記の化合物の1種あるいはそれ以上をそのまま患者に投与してもよいが、上記の化合物の1種あるいはそれ以上を有効成分として含む医薬組成物を製剤添加物を用いて製造し、医薬組成物の形態で患者に投与することが好適

である。本発明の医薬の有効成分としては、上記の一般式に包含される遊離形態の化合物の他、酸付加塩や塩基付加塩等の塩や、それらの任意の水和物を用いてもよい。本発明の医薬の投与形態は特に制限されず、経口的又は非経口的に投与することができる。上記の医薬組成物の製造に用いる薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤ないし溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等を挙げることができる。

【0018】経口投与に適する製剤の例としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、又はシロップ剤等を挙げることができる。また、非経口投与に適する製剤としては、例えば、注射剤、点滴剤、坐剤、吸入剤、又は貼付剤等を挙げることができる。経口投与に適する製剤には、薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物として、例えば、ブドウ糖、乳糖、D-マンニトール、デンプン、又は結晶セルロース等の賦形剤；カルボキシメチルセルロース、デンプン、又はカルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤又は崩壊補助剤；ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチン等の結合剤；ステアリン酸マグネシウム又はタルク等の滑沢剤；ヒドロキシプロピルメチルセルロース、白糖、ポリエチレングリコール又は酸化チタン等のコーティング剤；ワセリン、流動パラフィン、ポリエチレングリコール、ゼラチン、カオリン、グリセリン、精製水、又はハードファット等の基剤を用いることができる。

【0019】経皮又は経粘膜投与に適する製剤は、例えば、フロン、ジエチルエーテル、又は圧縮ガス等の噴射剤；ポリアクリル酸ナトリウム、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、ポリイソブチレン、ポリブテン等の粘着剤；木綿布又はプラスチックシート等の基布等の製剤用添加物を用いて製造することができる。注射あるいは点滴用に適する製剤には、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール等の水性あるいは用時溶解型注射剤を構成しうる溶解剤又は溶解補助剤；ブドウ糖、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グリセリン等の等張化剤；無機酸、有機酸、無機塩基又は有機塩基等のpH調節剤等の製剤用添加物を添加して製造してもよい。

【0020】本発明の医薬は、赤血球の変形能を改善する作用を有しており、微小循環領域における血液の流動性を改善するので、病態として血液流動性の低下が認められる各種疾患の予防及び／又は治療に有用である。このような疾患としては、例えば、末梢循環不全症、動脈硬化症、糖尿病、脳血栓の後遺症、冷感時の虚血性症状などを例示することができるが、本発明の医薬の適用対象は上記のものに限定されることはない。また、上記の疾患の治療や予防に用いられる他の薬剤と併用してもさ

しつかえない。

【0021】本発明の医薬の投与量は特に制限されず、投与形態、年齢、体重、症状等に応じて適宜選択すればよい。例えば、経口投与の場合には、成人1日あたり、有効成分量として0.02～10 mg/Kg、好ましくは0.05～1.0 mg/Kgを投与すればよい。投与は1日あたり1回もしくは数回に分けてもよく、投与期間も、年齢、症状等に応じて任意に定めることができる。なお、本発明の医薬の有効成分の一例であるダイゼインの急性毒性は、1,000 mg/kg以上（マウス、p.o.）であり、極めて毒性の低い化合物である。

【0022】

【実施例】

1. 血液の膜通過速度測定方法

イン・ビトロの場合には、血液990 μ lにジメチルホルムアミドに溶解したサンプル10 μ lを添加し、室温(23℃)でインキュベートした後、レイド(Reid, H. L., et al., J. Clin. Path., 29, pp.855-856, 1976)の方法に従って、一定圧力(ΔP : 200 mm H₂O)で10秒間フィルターを通過させた後、フィルター上部の血液を除き、50 mlの水で膜を通過した血液を希釈して溶血させた。このサンプルをよく攪拌した後、波長506 nmの吸光度を測定してヘモグロビンの定量を行った。エキソ・ビポの場合には、血液を30分間室温に放置した後、直接フィルター処理に付した。なお、測定は全て採血後6時間以内に行った。また、採血は、ヒト(20歳以上の健康な男子)又はラットより0.1% EDTAを用いて行い、フィルターとしてNucleoporeのヘマフィル・メンブレン(孔径4.7～5.0 μ m, 直径13mm)を用いた。

【0023】2. 実験結果

(1) イン・ビトロでの血液の膜通過能

血液流動性の評価として血液の膜通過速度を測定した。本発明の医薬として、ダイゼインおよびオロボールを用い、対照として赤血球変形能を向上させる薬剤として報告されているペントキシフィリン(小黒昌夫ら、基礎と臨床、13(6), pp.2033-2038, 1979)との比較試験を行った。結果を表1に示す。ラット血液の通過速度は、11.6 μ Mのダイゼインにより約9%、360 μ Mのペントキシフィリンにより約10%上昇したが、この結果はダイゼインがペントキシフィリンの約30倍の活性を有していることを示すものである。また、ダイゼインの濃度依存性、並びにヒト及びラットの血液での作用の比較を行った結果を表2に示す。ヒト血液では15.7 μ Mまで、ラットでは31.5 μ Mまで濃度依存的に血液の膜通過速度が上昇し、コントロールの1.2～1.3倍となった。それ以上の濃度では通過速度のさらなる上昇は認められなかった。

【0024】

【表1】

サンプル名		吸光度 (AU)	比コントロール(%)
コントロール	(n=5)	0.411 ± 0.025	—
ダイゼイン	3.9 μM (n=5)	0.406 ± 0.020	98.8
"	5.8 μM (n=5)	0.427 ± 0.023	103.9
"	11.6 μM (n=5)	0.447 ± 0.043	108.8
オロボール	5.7 μM (n=5)	0.453 ± 0.008	109.2
ペントキシ	180 μM (n=5)	0.418 ± 0.026	101.7
フィリン	360 μM (n=5)	0.450 ± 0.026	109.5
"	720 μM (n=5)	0.457 ± 0.045	111.2

【0025】

* * 【表2】

サンプル名		吸光度 (AU)	比コントロール(%)
コントロール		0.347 ± 0.014	—
ヒト血液	3.9 μM	0.360 ± 0.019	103.7
"	7.9 μM	0.392 ± 0.036	113.0
"	15.7 μM	0.438 ± 0.016	126.2
"	31.5 μM	0.430 ± 0.012	123.9
"	63.0 μM	0.443 ± 0.010	127.7
コントロール		0.370 ± 0.021	—
ラット血液	3.9 μM	0.372 ± 0.010	100.5
"	7.9 μM	0.400 ± 0.013	108.1
"	15.7 μM	0.433 ± 0.013	117.0
"	31.5 μM	0.452 ± 0.018	122.2
"	63.0 μM	0.450 ± 0.016	121.6

【0026】(2) エキソ・ビボでの血液の膜通過能
18時間絶食したラット（日本エルエスシー（株）から購入した std:Wister/ST系 10 周齢の雄、303-337 g）に0.5% CMCに懸濁したサンプルを経口投与した。3時間後にダイナボット（株）製のペントバルビタールナトリウム 50 mg/ml を用いて麻酔下で採血を行い、血液を氷中に保存した後、室温に30分放置して血液の膜通過速度を測※

※定した。各濃度について5匹のラットを用い、1匹について2回測定を行った。0.4-10 mg/kgのダイゼイン投与により用量依存的な通過速度の上昇がみられ、30 mg/kg投与群においては約30% の上昇がみられた。結果を表3に示す。

【0027】

【表3】

サンプル名		吸光度 (AU)	比コントロール(%)
コントロール		0.187 ± 0.008	—
ダイゼイン	0.4 mg/kg	0.195 ± 0.017	104.2
"	2.0 mg/kg	0.230 ± 0.015	123.0
"	10.0 mg/kg	0.249 ± 0.009	133.2

【0028】CMC に懸濁した10 mg/kgのダイゼインをラットに経口投与し、1, 2, 及び3 時間後にそれぞれ麻酔下で採血を行い、上記の方法によって血液の膜通過速度の経時変化を調べた（各4匹について2回測定）。コントロールとしてCMC 溶液を投与し、同様に採血と測定を

行った（各3匹を2回測定）。吸光度 (AU) の結果を表4に示す。0 時間のデータは、薬剤非投与で麻酔下に採血を行い、同様に測定を行ったものである。コントロールでは3時間後まで通過速度の有意な変化は認められなかったが、ダイゼイン投与群においては2時間後以降に

有意な上昇（約20%）がみられた。

*【表4】

【0029】

*

投与後経過時間（時）	コントロール	ダイゼイン
0		0.326 ± 0.028
1.0	0.329 ± 0.021	0.339 ± 0.013
2.0	0.312 ± 0.022	0.383 ± 0.011
3.0	0.327 ± 0.023	0.400 ± 0.014

【0030】

【発明の効果】本発明の医薬は、赤血球の変形能を改善する作用を有しており、微小循環領域における血液の流

動性を改善することができるので、病態として血液流動性の低下する疾患の予防及び／又は治療に有用である。